

黄芪水提取物抑制 PI3K/Akt 通路预防肺癌发生的作用及机制研究

刘小敏, 卢琳琳, 黄艳芳, 李小艳, 刘中秋*

广州中医药大学国际中医药转化医学研究所, 广东 广州 510006

摘要: **目的** 探讨黄芪水提取物对肺癌的抑制作用及相关机制。**方法** 采用 MTT 实验、EdU 实验以及划痕实验检测黄芪水提取物对肺癌 A549 和 H1299 细胞的活性、增殖能力和迁移能力的影响, 采用流式细胞仪考察黄芪水提取物对肺癌细胞周期的影响, 通过 Western blotting 实验检测 PI3K/Akt 通路相关蛋白表达, 通过苯并芘诱导的小鼠肺癌模型观察黄芪水提取物对体内肺癌的影响。**结果** MTT 实验结果表明, 黄芪水提取物作用于 A549 和 H1299 细胞 48 h 后, 细胞的生长活性被抑制; EdU 实验结果表明, 黄芪水提取物能够显著抑制 A549 和 H1299 细胞的增殖能力; 对细胞周期考察的实验结果表明, 黄芪水提取物能够将 A549 和 H1299 细胞周期阻滞在 S 期; 划痕实验结果表明, 黄芪水提取物作用于 A549 和 H1299 细胞 24 h 和 48 h 后, 能够显著抑制细胞的迁移能力; Western blotting 实验结果表明, 黄芪水提取物能够下调 A549 和 H1299 细胞磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)、磷酸化的磷酸肌醇依赖性蛋白激酶 1 (p-PDK1) 和磷酸化的蛋白激酶 B (p-Akt) 蛋白表达水平; 体内实验结果表明, 黄芪水提取物能够显著抑制小鼠肺部肿瘤数量及大小。**结论** 黄芪水提取物能够抑制肺癌, 该机制可能与 PI3K/Akt 信号通路受阻有关。

关键词: 黄芪; PI3K/Akt; 肺癌; 增殖; 迁移

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2019)07-1621-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.07.019

Water extracts of *Astragali Radix* prevent lung carcinogenesis via inhibiting PI3K/Akt pathway

LIU Xiao-min, LU Lin-lin, HUANG Yan-fang, LI Xiao-yan, LIU Zhong-qiu

International Institute for Translational Chinese Medicine, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China

Abstract: Objective To investigate the inhibitory effect and mechanism of the water extracts of *Astragali Radix* on lung cancer. **Methods** The effects of *Astragali Radix* water extracts on cell viability, cell proliferation and cell migration of A549 and H1299 cells were detected by MTT assay, EdU assay and wound healing assay, respectively. The effect of *Astragali Radix* water extracts on cell cycle was detected by flow cytometry. Western blotting assay was used to study the expression of related proteins in PI3K/Akt pathway. Finally, the effect of *Astragali Radix* water extracts on lung cancer *in vivo* was observed by benzo[a]pyrene-induced lung cancer model. **Results** From the result of MTT assay, the activity of A549 and H1299 cells was inhibited after treated with *Astragali Radix* water extracts after 48 h. In the EdU experiment, the proliferation ability of A549 and H1299 cells was significantly inhibited by *Astragali Radix* water extracts in a concentration dependent manner. The study of propidium iodide staining assay result showed that the cell cycle of A549 and H1299 cells was arrested in S phase. In addition, the study of wound healing assay revealed that the migration ability of A549 and H1299 cells was significantly suppressed after 24 h and 48 h treatment by *Astragali Radix* water extracts. And Western blotting assay revealed that, in drug treatment group, the protein expressions of PI3K, p-PDK1, and p-Akt were down-regulated. Finally, *in vivo* experiment showed that *Astragali Radix* water extracts significantly inhibited the number and size of lung tumor nodules in mice. **Conclusion** It is concluded that *Astragali Radix* water extracts can inhibit lung cancer. And the mechanism may be related to the inhibition of PI3K/Akt signaling pathway.

Key words: *Astragali Radix*; PI3K/Akt; lung cancer; proliferation; migration

肺癌是引起人类死亡的主要癌症, 其在世界各国发病率和死亡率均较高^[1]。中国是癌症患者最多的国家, 肺癌的发病率和死亡率均位于我国所有癌

症之首位。临床上 80%~85% 的肺癌患者为非小细胞肺癌, 其临床治疗效果和预后差, 5 年生存率为 17% 左右^[2]。近年来中医药在治疗肺癌方面具有多

收稿日期: 2018-10-19

作者简介: 刘小敏 (1993—), 女, 硕士研究生, 研究方向为分子生物学。Tel: 15913115499 E-mail: liuxiaomin5499@126.com

*通信作者 刘中秋, 教授。E-mail: liuzq@gzucm.edu.cn

成分、多靶点的优势,越来越多的具有抗肿瘤作用的中药成为研究热点。黄芪 *Astragali Radix* 为豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 或膜荚黄芪 *A. membranaceus* (Fisch.) Bge. 的干燥根,为历代中医最为常用的中药之一。研究表明,黄芪具有抗肿瘤等药理作用。中医临床常将黄芪单独或组成各种方剂用于各类中、晚期癌症患者的治疗,提高患者生活质量^[3-5]。磷脂酰肌醇-3-激酶/蛋白激酶 B (PI3K/Akt) 信号通路是体内主要生存通路之一,也是学界公认的癌细胞存活第一通路,在肿瘤的发生发展中起重要作用^[6]。PI3K/Akt 信号通路活化时能够促进细胞增殖、加速细胞周期、促进肿瘤转移和抑制细胞凋亡,与肺癌的发生发展、治疗及预后密切相关^[7]。约 90% 的非小细胞肺癌细胞株存在 PI3K/Akt 通路的激活,以 PI3K/Akt 通路为靶点的新药研发越来越受到重视。本研究探究黄芪水提物对人非小细胞肺癌细胞 A549 和 H1299 增殖、细胞周期、细胞迁移的影响及对体内荷瘤小鼠的抑瘤作用,并初步探讨对 PI3K/Akt 通路的影响,为黄芪对肺癌相关疾病的治疗作用及机制研究提供参考。

1 材料

1.1 药品和试剂

黄芪饮片(甘肃产道地药材),购买于广州至信中药饮片有限公司,由国际中医药转化医学研究所段礼新研究员鉴定为蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge var. *mongholicus* (Bunge) Hsiao 的干燥根,凭证标本(20130601)存放于广州中医药大学。苯并芘、噻唑蓝(MTT)和二甲基亚砜(DMSO)购买于 Sigma-Aldrich 公司;EdU 细胞增殖检测试剂盒购买于广州锐博生物科技有限公司;细胞周期与细胞凋亡检测试剂盒购买于碧云天生物技术公司;p-Akt 信号通路抗体试剂盒、PI3K 一抗和相对应的二抗购买于 Cell Signaling Technology 公司; β -actin 一抗购买于 Santa Cruz 公司;Western blotting 相关试剂购买于 Bio-Rad 公司;其他试剂等均为分析级。

1.2 仪器

PerkinElmer VictorX3 多功能酶标仪,美国 Bio-Rad 公司;Leica DMI3000B/DF450C 荧光倒置显微镜,德国 Leica 公司;BD FACSAria III Cell Sorter 流式细胞仪,美国 BD 公司;FluorChem E System ECL 化学发光仪,美国 CB 公司。

1.3 细胞系和细胞培养

A549 和 H1299 细胞购于中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库,细胞培养于含 10%胎牛血清和 1%青霉素-链霉素溶液的 RPMI 1640 完全培养基中,置于含 5% CO₂、温度为 37 °C 的恒温培养箱,隔天换液。

1.4 实验动物

A/J 小鼠,雄性,体质量 18~22 g,购于杰克逊实验动物中心,动物合格证号 99612800000100,小鼠饲养于广州中医药大学国际中医药转化医学研究所 SPF 动物房,实验动物使用许可证号 SYXK(粤)2014-0144。

2 方法

2.1 黄芪水提物的制备

取黄芪饮片 750 g,加入 7 500 mL 双蒸水浸泡 1 h,加热煮沸 1 h 后,用 8 层纱布滤过,收集滤液。剩下的药渣加入 6 000 mL 双蒸水,煎煮 30 min 后滤过,收集滤液。合并 2 次所得滤液,滤液浓缩至 750 mL,制备成生药终质量浓度为 1 g/mL 的黄芪水提物(该水提物中含毛蕊异黄酮 0.193 4 mg/mL、黄芪甲苷 0.29 mg/mL^[7]),分装,置于-20 °C 保存备用。

2.2 黄芪水提物体外对肺癌细胞的影响

2.2.1 MTT 实验 取生长状态良好处于对数生长期的 A549 或 H1299 细胞,按照每孔 8×10^3 个的密度,接种于 96 孔板中,置于恒温培养箱中过夜,使细胞贴壁。然后加入不同质量浓度的黄芪水提物(0、3.125、6.25、12.5、25、50、100 mg/mL)进行培养。培养 48 h 后,弃去原有的含药培养基,每孔加入 100 μ L 0.5 mg/mL 的 MTT 溶液,放置于恒温培养箱中,继续培养 4 h。弃去 MTT 溶液,每孔加入 150 μ L DMSO,放置于摇床上,避光震荡 15 min。在多功能酶标仪上测定吸光度(A)值(测定波长为 490 nm)。

2.2.2 EdU 实验 取生长状态良好处于对数生长期的 A549 或 H1299 细胞,按照每孔 8 000 个的密度,接种于 96 孔板中,置于恒温培养箱中过夜,使细胞贴壁。然后加入含有不同质量浓度黄芪水提物(0、6.25、12.5 mg/mL)的新鲜培养基,置于恒温培养箱中培养 48 h。按照 EdU 细胞增殖检测试剂盒说明书进行操作,最后用荧光倒置显微镜观察拍照。

2.2.3 流式细胞术检测细胞周期 将 A549 或 H1299 细胞以每孔 1.6×10^5 个的密度接种在 6 孔板上,并置于恒温培养箱中。细胞贴壁后,弃去旧的

培养基, 加入新鲜的无血清培养基继续培养 24 h。然后, 用含有不同质量浓度黄芪水提取物 (0、6.25、12.5 mg/mL) 的新鲜培养基培养 48 h。收集细胞并用预冷的 75%乙醇溶液于 4 °C 固定 12~24 h。向细胞中加入适量碘化丙啶染色溶液, 并于 37 °C 水浴中避光孵育 30 min。用流式细胞仪在激发波长 488 nm 处检测红色荧光。

2.2.4 划痕实验 种板前, 用细记号笔轻轻地在 6 孔板背部均匀地划 6 条笔直的横线, 横穿过孔, 每孔至少穿过 3 条线。按照每孔 5.0×10^5 个的密度将细胞接种在 6 孔板中, 于恒温培养箱中培养过夜。弃去旧培养基, 用 10 μ L 枪头垂直于 6 孔板背部的横线在细胞中划痕。用 PBS 洗涤 2~3 次后, 加入无血清培养基, 在荧光倒置显微镜下拍照, 记录 0 h 时间点细胞划痕状况。然后用含不同质量浓度黄芪水提取物 (0、6.25、12.5 mg/mL) 的无血清培养基处理细胞, 分别培养 24、48 h 后, 观察记录细胞划痕愈合状况。每天更换细胞培养基。计算愈合率。

愈合率 = (24 h 或 48 h 划痕距离 - 0 h 划痕距离) / 0 h 划痕距离

2.2.5 Western blotting 实验 将 A549 或 H1299 细胞以每孔 1.6×10^5 个的密度接种在 6 孔板上, 并置于恒温培养箱中。细胞贴壁后, 弃去旧的培养基, 加入含不同质量浓度黄芪水提取物 (0、6.25、12.5 mg/mL) 的新鲜培养基培养 48 h。提取细胞总蛋白, 用 BCA 定量法测定蛋白质量浓度。用移液枪准确吸取相同量的蛋白样品 (30~50 μ g) 加至压缩胶, 以 120 V 的电压分离一定时间, 然后转移至 PVDF 膜, 以 300 mA 的恒定电流转膜。具体转膜时间根

据目标蛋白质的相对分子质量确定, 90~120 min。将 PVDF 膜在 5% BSA 封闭液或 5% 牛奶封闭液中室温封闭 1 h 后加入相应的一抗于 4 °C 摇床孵育过夜。第 2 天, 回收一抗, 加入相应的二抗于室温下摇床孵育 1 h。最后进行曝光。

2.3 黄芪水提物体内对肺癌小鼠的影响

选取雄性 A/J 小鼠 24 只, ip 100 mg/kg 苯并芘。2 周后, 动物被随机分为 3 组: 模型组和黄芪水提取物低、高剂量 (2、4 g/kg) 组, 模型组 ig 给予生理盐水, 黄芪水提取物组 ig 给予相应剂量黄芪水提取物, 每天给药 1 次, 连续给药 28 周。给药结束后处死小鼠, 取全肺组织, 通过体视显微镜测量各组小鼠肺部肿瘤的数量及大小。小鼠取材后, 取新鲜肺组织置于冰上, 肉眼计数肿瘤数量后, 再在体视显微镜下观察并拍照, 通过显微镜计数补充肿瘤数量, 同时采用测量工具测量肿瘤直径 (R), 并按照 $4\pi R^2/3$ 进行肿瘤体积的计算。

2.4 统计学方法

所有实验结果均采用 SPSS 19.0 统计软件进行统计分析, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用 One-way ANOVA 分析方法。

3 结果

3.1 黄芪水提物体外对 A549 和 H1299 细胞的影响

3.1.1 体外抑制 A549 和 H1299 细胞的增殖 通过 MTT 实验考察黄芪水提取物对 A549 和 H1299 细胞活力的影响。由实验结果可知, 黄芪水提取物作用于细胞 48 h 后, 相对于对照组, 细胞的生长活力均受到不同程度的影响 (图 1)。选取细胞活力大于 70% 时的黄芪水提取物质量浓度 (6.25、12.5 mg/mL) 进行

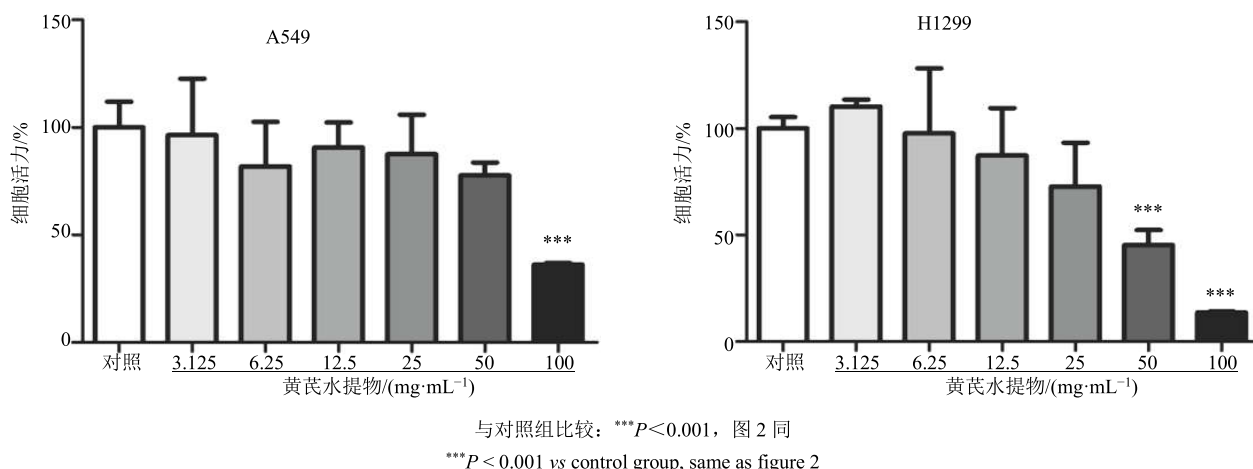


图 1 黄芪水提取物对 A549 和 H1299 细胞生长活力的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Fig. 1 Effect of water extracts from *Astragali Radix* on viability of A549 and H1299 cells ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

EdU 实验。EdU 实验结果显示蓝色荧光代表总细胞，绿色荧光代表增殖细胞，绿色荧光与蓝色荧光比值代表细胞增殖率。对细胞增殖率统计结果显示，黄

芪水提物能够显著抑制 A549 和 H1299 细胞的增殖能力 ($P < 0.001$)，且以质量浓度依赖方式抑制增殖 (图 2)。

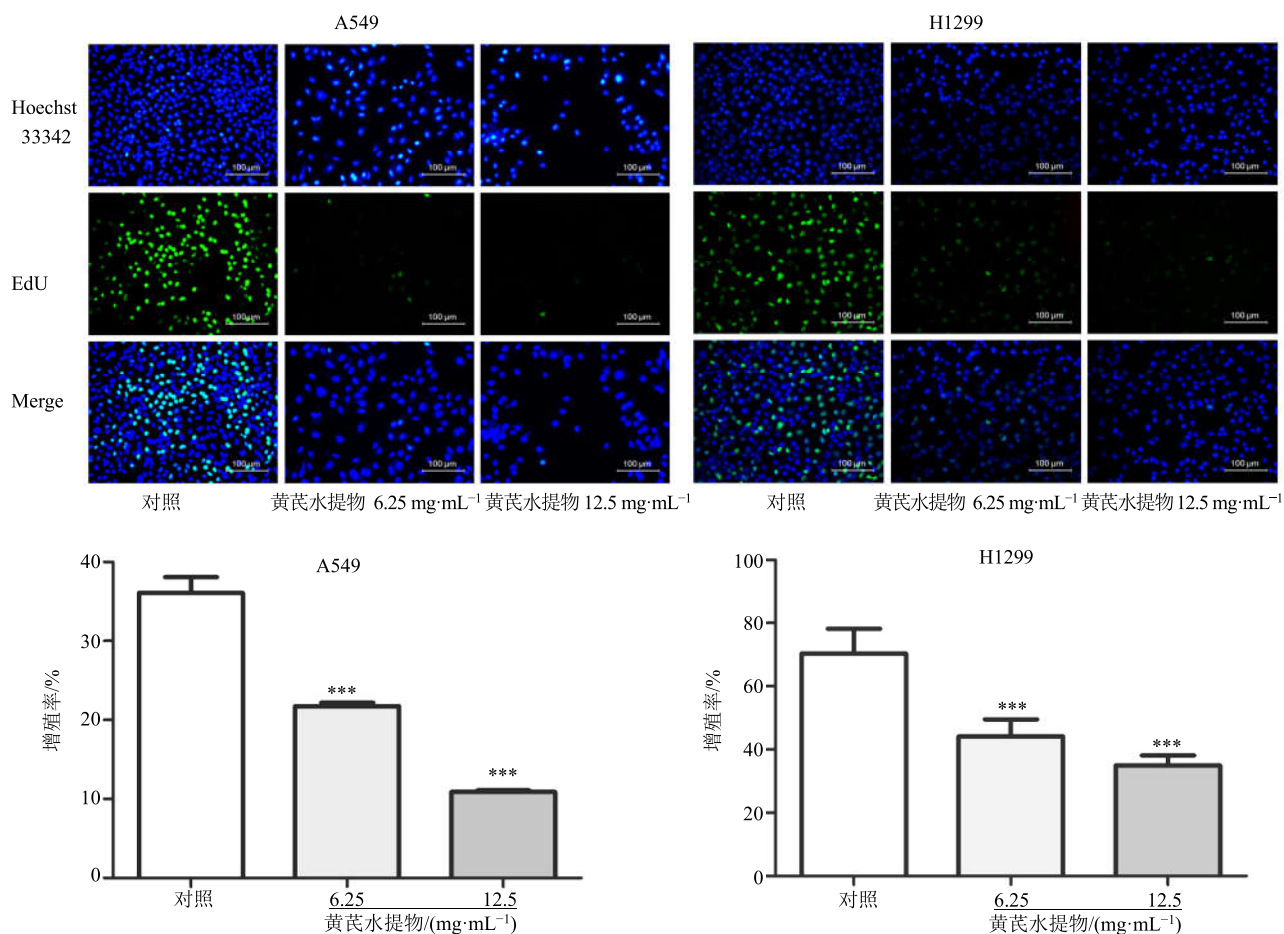


图 2 黄芪水提物对 A549 和 H1299 细胞增殖能力的影响 ($\times 100$, $\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Fig. 2 Effect of water extracts of *Astragali Radix* on proliferation ability of A549 and H1299 cells ($\times 100$, $\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

3.1.2 黄芪水提物将 A549 和 H1299 细胞周期阻滞在 S 期 细胞经碘化丙啶溶液染色后，使用流式细胞术考察黄芪水提物对 A549 和 H1299 细胞周期的影响，结果见图 3。黄芪水提物可以增加 A549 和 H1299 细胞处于 S 期的细胞数目，将细胞周期阻滞在 S 期 ($P < 0.01$ 、 0.001)，且具有质量浓度依赖性。

3.1.3 黄芪水提物抑制 A549 和 H1299 细胞的迁移 通过划痕实验考察黄芪水提物对 A549 和 H1299 细胞迁移能力的影响。根据实验结果 (图 4)，黄芪水提物处理细胞 24、48 h 后，与对照组相比，黄芪水提物组细胞迁移能力下降 ($P < 0.01$ 、 0.001)，说明黄芪水提物能够抑制 A549 和 H1299 细胞的迁移能力。

3.1.4 黄芪水提物阻断 PI3K/Akt 通路 通过 Western blotting 实验考察黄芪水提物对 PI3K/Akt 通

路相关蛋白表达水平的影响，结果见图 5。黄芪水提物作用于 A549 和 H1299 细胞 48 h 后，与对照组相比，黄芪水提物组中 PI3K、磷酸化的磷酸肌醇依赖性蛋白激酶 1 (p-PDK1) 和磷酸化的蛋白激酶 B (p-Akt) 蛋白表达水平降低，结果见表 1。说明黄芪水提物能够阻断 PI3K/Akt 通路。

3.2 黄芪水提物对小鼠体内肺部肿瘤生长的影响

用苯并芘诱导 A/J 小鼠肺癌模型，并给予黄芪水提物 ig 处理，连续给药 28 周，通过对小鼠肺部肿瘤数量及大小测量发现 (图 6)，与模型组比较，黄芪水提物低剂量组 (2 g/kg) 和高剂量组 (4 g/kg) 肿瘤数量显著减少 ($P < 0.01$ 、 0.001)、肿瘤体积显著减小 ($P < 0.01$ 、 0.001)，说明黄芪水提物能够抑制小鼠肺部肿瘤的生长。

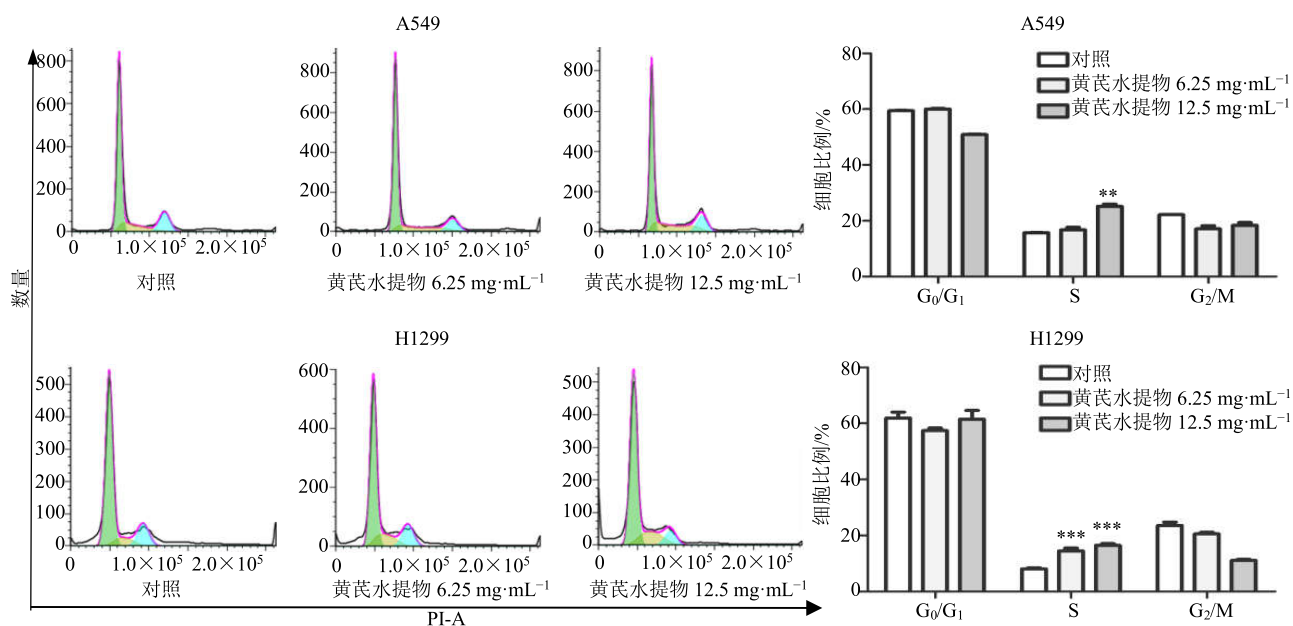


图 3 黄芪水提取物对 A549 和 H1299 细胞周期的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 3 Effect of water extracts from *Astragali Radix* on cell cycle of A549 and H1299 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

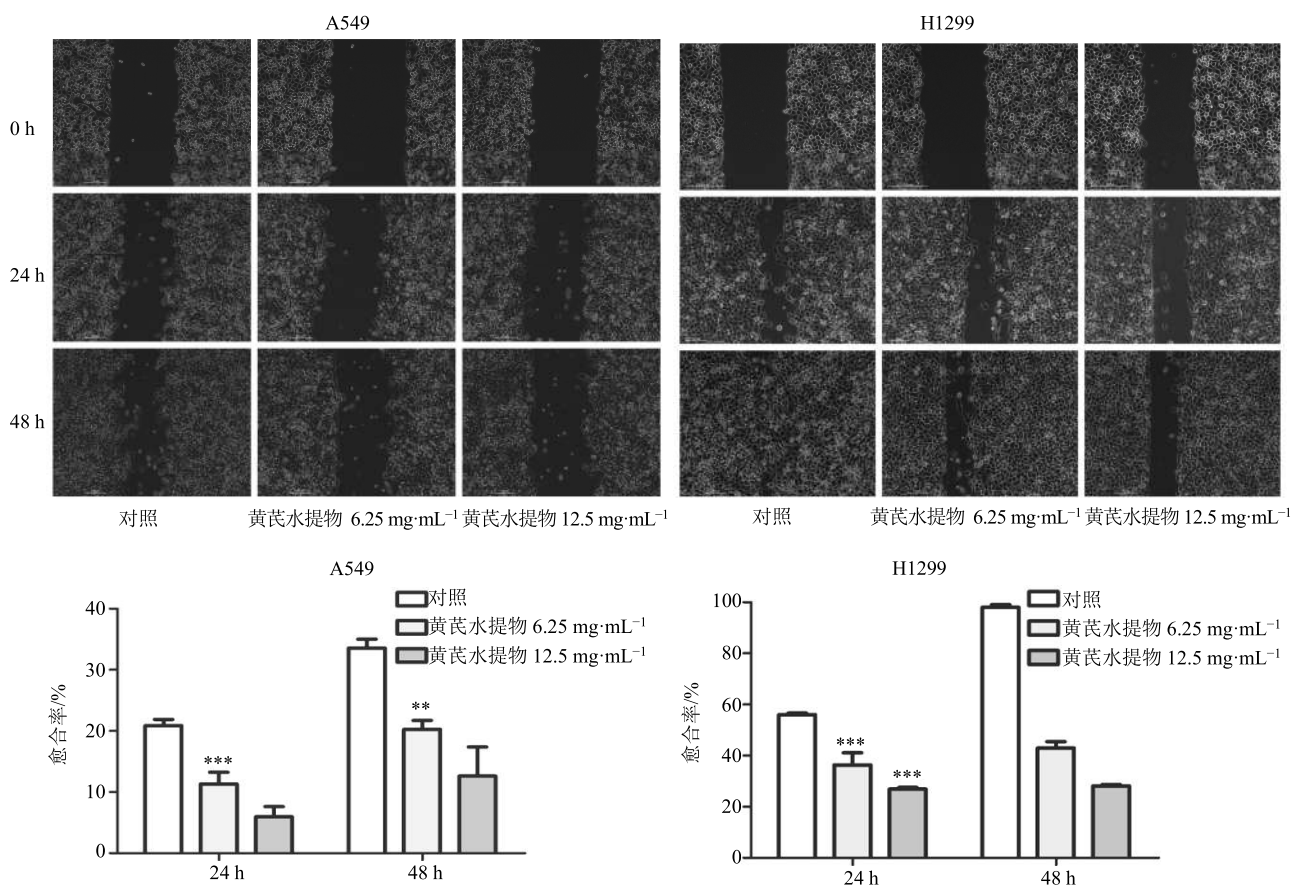


图 4 黄芪水提取物对 A549 和 H1299 细胞迁移能力的影响 ($\times 40, \bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 4 Effect of water extracts from *Astragali Radix* on migration ability of A549 and H1299 cells ($\times 40, \bar{x} \pm s, n = 3$)

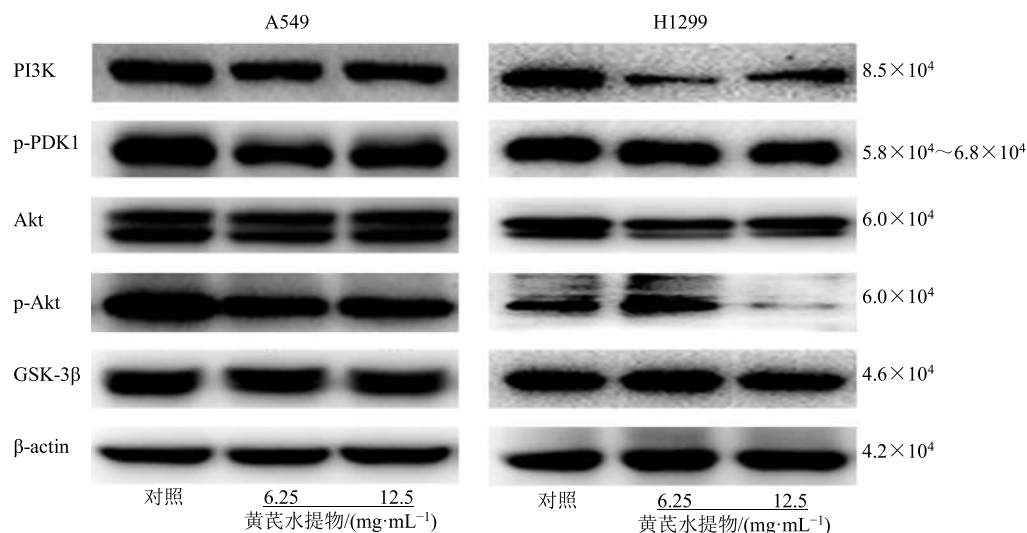
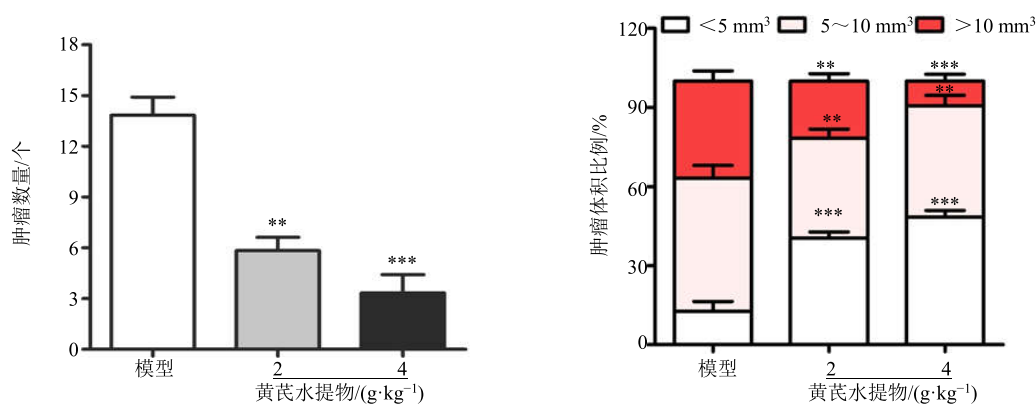


图 5 黄芪水提取物对 A549 和 H1299 细胞 PI3K/Akt 通路蛋白表达的影响

Fig. 5 Effect of water extracts from *Astragali Radix* on protein expression of A549 and H1299 cells表 1 A549 和 H1299 细胞 PI3K/Akt 通路蛋白相对表达量 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)Table 1 Relative expression of each protein in A549 and H1299 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

细胞	组别	$\rho/$ (mg·mL ⁻¹)	蛋白相对表达量				
			PI3K	p-PDK1	Akt	p-Akt	GSK-3β
A549	对照	—	1.920 ± 0.200	2.284 ± 0.141	2.069 ± 0.060	2.617 ± 0.091	1.550 ± 0.183
	黄芪水提取物	6.25	1.513 ± 0.167*	1.678 ± 0.109***	2.061 ± 0.028	2.024 ± 0.060***	1.535 ± 0.115
		12.50	1.444 ± 0.099*	1.700 ± 0.116***	2.070 ± 0.036	1.739 ± 0.038***	1.546 ± 0.161
H1299	对照	—	1.291 ± 0.211	1.252 ± 0.173	1.163 ± 0.311	1.009 ± 0.223	1.453 ± 0.252
	黄芪水提取物	6.25	0.703 ± 0.107**	1.169 ± 0.080	1.168 ± 0.104	1.207 ± 0.218	1.450 ± 0.197
		12.50	0.813 ± 0.133**	0.922 ± 0.085*	1.160 ± 0.040	0.060 ± 0.020***	1.471 ± 0.126

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs control group与模型组比较: ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs model group图 6 黄芪水提取物对 A/J 小鼠体内肺部肿瘤的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)Fig. 6 Effect of water extracts from *Astragali Radix* on lung tumor of A/J mice *in vivo* ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

4 讨论

肺癌是最常见且严重危害人类健康的恶性肿瘤^[8]。据 GLOBOCAN 2012 全国肺癌统计数据显示, 全国新增癌症患者约为 1 406.8 万, 因癌症死亡患者约为 820.2 万。而其中新增肺癌患者约为 182.5 万, 因罹患肺癌而死亡的患者约为 159 万, 位居所有癌症发病率和死亡率首位, 且 5 年生存率仅为 5.8%。临床上绝大多数的肺癌患者为非小细胞肺癌, 确诊时接近 80% 属于中晚期, 失去了外科手术治疗的机会, 只能进行化疗、放疗、靶向治疗或者中医药治疗^[9]。

我国作为中医药大国, 具有得天独厚的中药资源。中药结合化疗的方法引入非小细胞肺癌的治疗, 可以极大程度改善肺癌患者的诸多不良症状^[10]。黄芪味甘, 性微温, 是一味常用的药食同源类扶正中药。研究表明, 黄芪具有较强的肝脏保护、心脏保护、抗衰老、抗应激、抗缺氧、抗肿瘤等药理作用^[11-13]。董竞成等^[14]研究发现高剂量黄芪注射液能明显减少小鼠的肺部肿瘤质量和肺转移瘤数量; 赵莲华等^[15]研究发现黄芪对结直肠癌细胞和人白血病细胞的增殖和凋亡具有抑制作用。

PI3K/Akt 信号通路是体内主要生存通路之一, 主要成员有 PI3K、PDK1 和 Akt 等。PI3K 属于原癌基因, 与 PDK1 结合能够激活 Akt, PDK1 具有磷酸化自身残基的能力, 形成的 p-PDK1 也能够促使 Akt 的磷酸化。Akt 在 PI3K/Akt 信号转导通路中占枢纽地位, 其活化形式 p-Akt 可以通过磷酸化作用直接或间接影响下游靶蛋白众多家族。GSK3 β 是 PI3K/Akt 信号通路的底物, 是与 Akt 直接作用的下游蛋白, 生物学功能较复杂, 参与肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭等多种过程, 并能加速细胞周期。PI3K/Akt 通路在多种肿瘤组织中高表达, 如肺癌、乳腺癌、卵巢癌、子宫内膜癌、鼻咽癌、成神经管细胞瘤、恶性胶质瘤和骨髓增生异常综合征等^[16]。一项来自倪琛琛等^[17]研究的 100 例非小细胞肺癌组织结果显示, PI3K 及 Akt 蛋白在肺癌组织中的阳性表达率分别为 51% 和 23%, 均显著高于相应癌旁组织的阳性表达率。廖东卫等^[18]研究的 59 例非小细胞肺癌组织中 PI3K 蛋白阳性率 84.75%, 也呈现高表达特征。岳文涛等^[19]检测了非小细胞肺癌组织中 PI3K 及 Akt 基因表达水平, 结果显示 PI3K 和 Akt 基因表达水平癌组织明显高于癌旁组织。Marinov 等^[20]研究发现, 在 51% 的非小细胞肺癌患者样本和 74% 的非小细胞肺癌细胞系中均发现持续的 Akt 激

活和哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mTOR) 的磷酸化。

MTT 实验主要用于药物对体外培养的细胞毒性、细胞增殖及细胞活性的测定。MTT 的数据不仅可以表明化合物诱导细胞死亡的现象, 也可以显示化合物对肿瘤细胞的增殖抑制作用。MTT 数据显示黄芪水提物可在体外限制肿瘤细胞的增殖, 促进肿瘤细胞的死亡, 具有一定的抗肿瘤活性。进一步通过 EdU 实验研究表明, 黄芪水提物可以显著抑制 A549 和 H1299 细胞的增殖能力。肿瘤细胞的增殖与细胞周期紊乱密不可分, 因此通过对肿瘤细胞进行碘化丙啶染色, 而后通过流式细胞术检测了黄芪水提物对细胞周期的影响, 结果发现, 黄芪水提物能够将 A549 和 H1299 细胞周期阻滞在 S 期。

肺癌的恶性程度高不仅与其强的增殖能力有关, 而且与其高迁移和侵袭能力密切相关^[21]。临床上, 肺癌的转移通常导致手术失败, 是患者生存率低的主要原因。通过划痕实验考察了黄芪水提物对肺癌细胞迁移能力的影响, 发现黄芪水提物可以显著抑制 A549 和 H1299 细胞的迁移能力, 并呈现出浓度依赖性。另外通过 Western blotting 实验对机制的研究发现, 黄芪水提物可以下调 A549 和 H1299 细胞中 PI3K、p-PDK1 和 p-Akt 蛋白的表达, 阻断 PI3K/Akt 通路。

通过以上研究, 发现黄芪水提物能够抑制 A549 和 H1299 细胞的增殖和迁移能力, 并将细胞周期阻滞在 S 期, 且能够对 PI3K/Akt 通路产生抑制作用。肺癌的发生和发展是一个多因素、多步骤和多基因参与的复杂过程, 肿瘤动物模型是人类研究肿瘤的重要手段, 合适的肺癌动物模型对肺癌的研究及药物的筛选非常重要。移植性肿瘤模型是目前应用最多的肿瘤模型, 但是这类肿瘤生长速度快, 增殖比率高, 体积倍增时间短, 肿瘤生命性质简单, 这些都是与人体肿瘤的显著不同点^[22]。而诱发性肿瘤模型是用化学致癌剂、射线或病毒等在动物中诱发肿瘤, 与临床肺癌有较高的一致性, 适合抗肿瘤中药的筛选与评价, 也有利于研究肺癌的发病原因和制定合理的中药治疗方案^[23]。因此, 为模拟临床肺癌发生过程, 采用经典的致癌物苯丙芘诱发肺癌模型考察黄芪水提物的体内药效作用, 结果发现, 黄芪水提物低剂量组相对于模型组, 小鼠肺部肿瘤数量减少 44.4%, 黄芪水提物高剂量组相对于模型组, 小鼠肺部肿瘤数量减少 22.2%, 且黄芪水提物低剂量和高剂量组均能抑制小鼠肺部肿瘤体积。综上所述

述, 本研究从体内、体外实验证实了黄芪水提物对肺癌的抑制作用, 初步揭示了黄芪在治疗肺癌时的潜在机制, 为中医中药对肺癌的治疗奠定了一定的理论基础。

参考文献

- [1] Siegel R L, Miller K D, Jemal A. Cancer statistics, 2016 [J]. *Ca A Cancer J Clin*, 2018, 68(suppl 12): 277-300.
- [2] Migliorino M R, Santo A, Romano G, *et al.* Economic burden of patients affected by non-small cell lung cancer (NSCLC): The life study [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2017, 143(5): 1-9.
- [3] Liu J, Zhao Z Z, Chen H B. Review of *Astragali Radix* [J]. *Chin Herb Med*, 2011, 3(2): 90-105.
- [4] 唐黎, 武明花. 黄芪注射液联合化疗治疗恶性肿瘤临床观察 [J]. 中国医师杂志, 2006, 8(3): 425-426.
- [5] 张莹, 贾英杰, 李小江, 等. 注射用黄芪多糖联合 CIK 细胞治疗中晚期气虚型非小细胞肺癌的临床观察 [J]. 中草药, 2018, 49(7): 1647-1651.
- [6] Courtney K D, Corcoran R B, Engelman J A. The PI3K pathway as drug target in human cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2010, 28(6): 1075-1083.
- [7] Shi J, Zheng L, Lin Z F, *et al.* Study of pharmacokinetic profiles and characteristics of active components and their metabolites in rat plasma following oral administration of the water extract of *Astragali Radix* using UPLC-MS/MS [J]. *J Ethnopharmacol*, 2015, 169: 183-194.
- [8] She J, Yang P, Hong Q, *et al.* Lung cancer in China: Challenges and interventions [J]. *Chest*, 2013, 143(4): 1117-1126.
- [9] Ferlay J, Shin H R, Bray F, *et al.* Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008 [J]. *Int J Cancer*, 2010, 127(12): 2893-2917.
- [10] 廉政君, 张洪亮. 晚期非小细胞肺癌中西医结合治疗进展 [J]. 亚太传统医药, 2011, 7(2): 143-144.
- [11] 张莹, 王蕾, 杜梦楠. 注射用黄芪多糖治疗肿瘤的临床研究进展 [J]. 药物评价研究, 2016, 39(6): 1092-1094.
- [12] Shahzad M, Shabbir A, Wojcikowski K, *et al.* The antioxidant effects of *Radix Astragali* (*Astragalus membranaceus* and related species) in protecting tissues from injury and disease [J]. *Curr Drug Targets*, 2016, 17(12): 1331-1340.
- [13] 薛晓利, 张建琴, 马雯, 等. 基于 ¹H-NMR 代谢组学的黄芪甲苷对秀丽隐杆线虫寿命的延长作用研究 [J]. 中草药, 2018, 49(10): 2274-2281.
- [14] 董竞成, 董晓辉. 黄芪注射液与白细胞介素 2 增强树突细胞抗肿瘤转移作用的比较研究 [J]. 中国中西医结合杂志, 2005, 25(3): 236-239.
- [15] 赵莲华, 李清, 陈咏梅, 等. 黄芪成分 F3 新制剂对人 CCL-229、K562 癌细胞的抑制作用 [J]. 实用癌症杂志, 2003, 18(3): 242-244.
- [16] 葛信艳, 黄玮, 李瑞琴, 等. PI3K/Akt 信号转导通路与肿瘤发生相互作用的机制研究 [J]. 中国现代医药杂志, 2017, 19(7): 98-101.
- [17] 倪琛琛, 于敏, 张志红. EGFR 与 PI3K/AKT 信号通路相关蛋白在非小细胞肺癌组织中的表达及其意义 [J]. 安徽医科大学学报, 2011, 46(12): 1264-1266.
- [18] 廖东卫, 王莉, 张新光, 等. PTEN/PI3K 信号转导相关蛋白在非小细胞肺癌组织中的表达及其意义 [J]. 癌症, 2006, 25(10): 1238-1242.
- [19] 岳文涛, 王小敏, 王玥. PI3K/Akt/mTOR 信号转导途径与非小细胞肺癌的关系 [J]. 中国肺癌杂志, 2009, 12(4): 312-315.
- [20] Marinov M, Fischer B, Arcaro A. Targeting mTOR signaling in lung cancer [J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2007, 63(2): 172-182.
- [21] Fan X, Wang Y, Jiang T, *et al.* B-myb mediates proliferation and migration of non-small-cell lung cancer via suppressing IGFBP3 [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, doi: 10.3390/ijms19051479.
- [22] 孙婷. 乌拉坦诱导小鼠肺癌模型的研究 [D]. 开封: 河南大学, 2013.
- [23] 顾其华, 胡成平, 夏莹, 等. 3,4-苯并芘肺内注射构建大鼠肺肿瘤模型的实验研究 [J]. 中国肺癌杂志, 2007, 10(3): 172-175.